

УДК 615.324; 615.454.1; 543.063; 543.435; 543.42.062; 543.422.3-76

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И МЕТОДОВ КОНТРОЛЯ БИФУНКЦИОНАЛЬНОЙ МАЗИ

К.Р. Савельева^{1*}, Т.Ю. Андреевичева¹, Л.В. Персанова¹, О.А. Остапюк¹,
С.В. Поляков¹, В.Н. Шестаков¹

Резюме. Разработана новая бифункциональная мазь с хондроитина сульфатом и цецекоксибом на гидрофильной основе. Определены оптимальные условия приготовления и технологические свойства мази. Предложены методы стандартизации активных компонентов в бифункциональном препарате. Количественное определение хондроитина сульфата в мази проведено методом турбидиметрического титрования. Средняя относительная погрешность определения при P=95% – не более 2,01%. Количественное определение цецекоксиба проведено УФ-спектрофотометрическим методом. Средняя относительная погрешность определения при P=95% – не более 3,22%.

Ключевые слова: бифункциональная мазь, хондроитина сульфат, цецекоксиб, полиэтиленгликоль, диметилсульфоксид.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND METHODS OF CONTROL OF BIFUNCTIONAL OINTMENT

K.R. Saveleva^{1*}, T.Y. Andreevicheva¹, L.V. Persanova¹, O.A. Ostapyuk¹, S.V. Polyakov¹, V.N. Shestakov¹

Abstract. A new bifunctional ointment with chondroitin sulfate and celecoxib on a hydrophilic base was developed. The optimum conditions of the technology and technological properties of the ointment were determined. The techniques for quantitative control of active components in a bifunctional ointment are developed. Quantitative determination of chondroitin sulfate in an ointment was conducted by turbidimetric titration. A relative error of determination with confidence probability P=95% is not more than 2,01%. Quantitative determination of celecoxib was conducted by spectrophotometry. A relative error of determination with confidence probability P=95% is not more than 3,22%.

Keywords: bifunctional ointment, chondroitin sulfate, celecoxib, polyethylene glycol, dimethylsulfoxide.

1 – ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Министерства промышленности и торговли Российской Федерации, 109044, Россия, г. Москва, Лавров переулок, д. 6.

1 – State Institute of Drugs and Good Practices of the Ministry of Industry and Trade of Russian Federation, 6, Lavrov lane, Moscow, 109044, Russia

* адресат для переписки:
E-mail: saveleva@gilsinp.ru
Тел.: 8 (495) 676 43 60 доб. 2–28

ВВЕДЕНИЕ

Болезни опорно-двигательной системы занимают важное место в современной медицине, причем в последние годы их количество имеет определенную тенденцию к росту. Одним из самых распространённых заболеваний опорно-двигательной системы является остеоартроз (ОА). Это болезнь суставов, в основе которой лежит поражение суставного хряща с вторичными изменениями суставных поверхностей. Дистрофические изменения в суставах заключаются в постепенной дегенерации связок, хряща, капсул суставов. Наиболее типичными симптомами подобных заболеваний являются боль, частичная утрата подвижности, изменение структуры сустава.

Развитие заболевания не влияет на продолжительность жизни, но возникновение хронического болевого синдрома является одной из главных причин преждевременной потери трудоспособности, значительного снижения качества жизни пациентов и инвалидизации. Согласно отчету ВОЗ о социальных последствиях за-

болеваний, ОА коленных суставов занимает 4-е место среди причин нетрудоспособности у женщин и 8-е – у мужчин [1]. Одной из основных причин роста числа больных с дегенеративно-метаболическими поражениями суставов является глобальное постарение населения [2]. В результате проведенных эпидемиологических исследований было установлено, что количество больных ОА составляет около 15% населения Земли [1].

В России распространённость ОА составляет более 20 на 1 тыс. населения в возрасте 18 лет и старше. Ежегодно в России впервые регистрируется около 600 тыс. случаев ОА. Так, по официальным данным, заболеваемость ОА в России за последние годы возросла на 35%. Прогнозируют, что к 2020 г. встречаемость ОА в популяции может достичь 57%. При этом наблюдается тенденция роста заболеваемости за счет возрастной группы моложе 45 лет [3].

Лечение остеоартроза до недавнего времени было направлено скорее на уменьшение симптомов болезни, нежели на ее причину. Анальгетики, нестероидные противовоспалитель-

тельные и стероидные средства составляли основу лечения ОА. Однако побочные эффекты большинства этих лекарственных средств заставили пересмотреть показания к их широкому назначению больным ОА и способствовали разработке препаратов, способных контролировать течение болезни.

В последние годы широкое распространение в клинической практике получили лекарственные препараты на основе гликозаминогликанов. Среди таких препаратов первостепенная роль принадлежит естественным компонентам хрящевого межклеточного вещества – хондроитина сульфату и глюкозамину. Эти препараты способны контролировать течение заболевания, замедлять темпы его прогрессирования, стабилизировать структурные изменения в гиалиновом хряще и предупреждать развитие остеоартроза в интактных суставах [4]. Большой интерес представляют комбинированные препараты, в состав которых входят хондроитина сульфат, глюкозамина сульфат, глюкозамина гидрохлорид, с добавлением нестероидных противовоспалительных препаратов. Это сочетание действующих веществ усиливает и взаимодополняет фармакологические эффекты препаратов. Однако пероральное применение препаратов, особенно нестероидных противовоспалительных препаратов, ограничивается из-за большого числа побочных явлений, прежде всего со стороны желудочно-кишечного тракта и сердечно-сосудистой системы.

В связи с этим перспективным является применение локальной противовоспалительной терапии, так как лекарственные препараты в виде мазей, кремов, гелей позволяют избежать системных побочных реакций, особенно у пожилых пациентов [5]. Несмотря на то, что в медицинской практике используются разнообразные лекарственные средства, создание доступных, эффективных и безопасных лекарственных препаратов, которые позволяют не только контролировать симптомы болезни, но и останавливать ее прогрессирование, остается одной из актуальных проблем.

Целью настоящего исследования является разработка технологии и методов контроля бифункциональной мази, содержащей два активных компонента разного фармакологического действия, а именно корректор метаболизма костной и хрящевой ткани – хондроитина сульфат и нестероидное противовоспалительное средство группы коксибов – целекоксиб.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В ходе работы были использованы: хондроитина сульфата субстанция – порошок для пероральных лекарственных форм (98,8%, Bioiberica, Испания, с.12/0002, срок годности март 2018 г.), целекоксиба субстанция – порошок (99,0%, Alembic Pharmaceutical Limited, Индия, серия 1502001984, срок годности март 2019 г.), диметилсульфоксид (фарм., Panreas, Испания, № 191954), полиэтиленгликоль-400

(Panreas, Испания, № 142436), полиэтиленгликоль-4000 (фарм., Panreas, Испания, № 142438), стандарт Европейской Фармакопеи хондроитина сульфата натрия № Y0000280, серия 2.0, стандарт Европейской Фармакопеи целекоксиба № Y0001445, серия 2.0, цетилпиридиний хлорид C9002 (Sigma-Aldrich, США), диметилсульфоксид УФ-ИК-ВЭЖХ-ГПХ (Panreas, Испания, № 361954).

Аппаратура: гомогенизатор Silent CrusherM (Heidolph, Германия), магнитная мешалка с подогревом (IKA, Германия), pH-метр pH 21 (Hanna, Германия), климатическая камера KBF 115 (Binder, Германия), лабораторная настольная центрифуга (Eppendorf, Германия), ротационный вискозиметр Rheotest RV 2.1, автоматический титратор T50 (Mettler Toledo, Швейцария), спектрофотометр Cary 100 (Varian, Австралия), фильтрующая мембрана диаметром 33 мм Millex-HA с размером пор 0,45 мкм, фильтрующая мембрана диаметром 33 мм Millex-PVDF с размером пор 0,45 мкм.



Магнитная мешалка с подогревом IKA

Экспериментальная часть

Технология приготовления образцов. В обогреваемый смеситель загружают полиэтиленгликоли. Нагревают смесь до температуры 65–67 °С пока не расплавится высокомолекулярный полиэтиленгликоль. В расплав добавляют субстанцию целекоксиб и растворяют при интенсивном перемешивании (2000–3000 об/мин). В очищенной воде растворяют при перемешивании и нагревании до 43–47 °С навеску хондроитина сульфата до полного растворения. В раствор хондроитина сульфата приливают смесь основы с целекоксибом, интенсивно перемешивают и добавляют диметилсульфоксид. Смесь гомогенизируют при 5000–6000 об/мин [6].

Методика определения термической устойчивости

Три пробирки диаметром 14 мм и высотой 100 мм или цилиндры вместимостью 25 см³ наполняют на 2/3 объема испытываемой системой, закрывают пробками,

помещают в камеру с температурой 60 °С и выдерживают 24 ч, после чего определяют стабильность. Образцы считаются стабильными, если после термостабирирования в пробирках не наблюдалось расслоения.

Методика определения агрегативной устойчивости

Метод основан на выделении жидкой фазы из системы при центрифугировании. При проведении испытания две пробирки наполняют на 2/3 объема испытуемой мази. Пробирки выдерживают 20 мин при 45 °С, после чего устанавливают в гнезда центрифуги. Центрифугирование проводят в течение 5 мин при частоте вращения 6000 об/мин. Система является стабильной, если не наблюдается расслоения.

Определение реологических характеристик лекарственной формы проводили на ротационном вискозиметре Rheotest 2 на цилиндре Н, с константой $k=2,74$ при температуре 37 °С с предварительным растапливанием образцов по методике.

Растворы для количественного определения хондроитина сульфата

Стандартный раствор хондроитина сульфата натрия. 0,025 г (точная навеска) стандартного образца хондроитина сульфата натрия (предварительно высушенного при температуре 105 °С в течение 4 ч) помещают в мерную колбу объемом 25 мл, растворяют в воде, раствор доводят до метки тем же растворителем. 2,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, раствор доводят до метки водой.

Испытуемый раствор. Около 0,1 г (точная навеска) мази помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде и доводят объем до метки тем же растворителем. Перед использованием раствор фильтруют через мембрану Millex-NA с размером пор 0,45 мкм.

Раствор титранта. 1,0 г цетилпиридиния хлорида моногидрата помещают в мерную колбу объемом 1000 мл, растворяют в воде, доводят до метки тем же растворителем.

Методика проведения анализа. По 50 мл стандартного и испытуемого растворов титруют раствором титранта цетилпиридиния хлорида. Для определения конечной точки титрования используют автотитратор, снабженный фототродом с длиной волны в видимой области 520 нм.

Растворы для количественного определения целекоксиба

Стандартный раствор целекоксиба. 0,025 г (точная навеска) стандартного образца целекоксиба помещают в мерную колбу объемом 25 мл, растворяют в диметилсульфоксиде, раствор доводят до метки тем же

растворителем. 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, раствор доводят до метки диметилсульфоксидом.

Испытуемый раствор. Около 0,2 г (точная навеска) мази помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в диметилсульфоксиде и доводят объем до метки тем же растворителем. Перед использованием раствор фильтруют через мембрану Millex-PVDF с размером пор 0,45 мкм.

Измеряют оптическую плотность стандартного и испытуемого образцов при длине волны $\lambda=261$ нм в кварцевой кювете 10 мм и рассчитывают содержание целекоксиба в мг на 1 г мази.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В качестве активных компонентов в работе были использованы хондроитина сульфат натрия и целекоксиб. На терапевтический эффект мазей большое влияние оказывает характер основ, которые отличаются большим разнообразием и способны оказывать существенное влияние на высвобождение действующих веществ, отвечающих за необходимый лечебный эффект. Это обуславливается разнообразием физико-химических свойств как действующих, так и вспомогательных компонентов, используемых при разработке мазевой композиции. Для выбора мазевой основы было приготовлено несколько композиций мазей с использованием разных носителей: липофильных и гидрофильных. Для введения целекоксиба в липофильную основу, состоящую из ланолина и вазелина, предварительно была проведена работа по определению растворимости субстанции в диметилсульфоксиде. Были наработаны образцы мази с различными концентрациями активных компонентов, диметилсульфоксида, ланолина и вазелина. Все образцы оказались нестабильными, расслоение мази происходило в течение 24 ч.

Разработку технологии бифункциональной мази проводили с использованием гидрофильных основ. При выборе компонентов основы руководствовались тем, что целекоксиб хорошо растворяется в ПЭГ-400, что должно облегчить его ввод в композицию. В качестве компонентов гидрофильной основы использовали ПЭГ-400, ПЭГ-1500, ПЭГ-4000, ДМСО, воду очищенную. Были приготовлены образцы на гидрофильной основе с различными концентрациями активных и вспомогательных компонентов. Результаты представлены в таблице 1.

Технология получения бифункциональной мази состояла из следующих стадий: подготовка мазевой основы и растворение в ней действующего вещества целекоксиба, подготовка водного раствора хондроитина сульфата, смешение раствора хондроитина сульфата с мазевой основой, гомогенизация, фасовка и упаковка мази.

Таблица 1.

Составы образцов мази

№ образца	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Наименование	Состав, %										
Хондроитина сульфат	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5
Целекоксиб	5	5	5	5	5	5	1	1	1	1	1
Диметилсульфоксид	10	10	10	10	10	10	5	10	10	5	5
ПЭГ-400	50	50	50	45	40	48	55	47	45	48	50
ПЭГ-1500	20	10	-	15	20	12	-	-	-	-	-
ПЭГ-4000	-	10	20	-	-	-	14	25	25	25	19
Вода	10	10	10	20	20	20	20	12	14	16	20
Устойчивость	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+

Образцы с различным содержанием ПЭГ-1500 оказались неоднородными по массе, жидкими и нестабильными. Следует отметить, что системы с содержанием целекоксиба 5% и различным соотношением полиэтиленгликолей также были нестабильны. В течение двух дней в этих образцах наблюдалось выпадение целекоксиба. Агрегативно устойчивыми оказались образцы № 8-11 с содержанием ПЭГ-4000 в диапазоне 19–25%, ПЭГ-400 – 47–50% и целекоксиба – 1%. Системы проверяли на термическую и агрегативную стабильность.

Таблица 2.

Исследование образцов на агрегативную стабильность

№ образца	8	9	10	11
Стабильность в центробежном поле	+	+	+	+
Термостабильность	+	+	+	+
pH	6,10	6,09	6,09	6,39

Испытания показали, что образцы № 8–12 являются стабильными в центробежном поле и к термическим нагрузкам.

Кинетику структурообразования исследуемых образцов изучали в области изменения градиента скорости течения от малых к большим и от больших к малым скоростям. Структурно-механические характеристики оказывают заметное влияние на процессы высвобождения и всасывания лекарственных веществ из мазей, а также на их потребительские свойства: намазываемость, адгезию, способность выдавливаться из туб. Реологическим исследованиям подверглись образцы 8-11 (таблица 3).

Как видно, с увеличением содержания ПЭГ-4000 происходит рост предела текучести, системы становятся более вязкими. При увеличении концентрации

частиц в системе возрастает вероятность их взаимодействия. Если частицы соединяются в сплошной каркас, то его присутствие создает сильное сопротивление потоку. При этом дисперсионная среда оказывается иммобилизированной в «петлях» структурной сетки, образованной полимером, течение системы не наблюдается при приложении бесконечно малого напряжения, что и объясняет рост предела текучести.

Таблица 3.

Результаты реологических исследований образцов № 8–11

№ образца	8	9	10	11
Вязкость макс., Па·с	182,67	257,39	340,42	16,61
Вязкость мин., Па·с	2,07	2,44	4,74	0,81
Предел текучести, Па	172	171	178	26

У образцов 8, 9, 10 достаточно высокое напряжение сдвига (≥ 150 Па), в то время как у образца 11 оно на порядок ниже. Исходя из этого, можно сделать вывод о том, что последний образец будет легче выдавливаться из туб и лучше распределяться по поверхности кожи даже при небольшом «втирании». Данные реологических исследований таких характеристик, как эффективная вязкость, предельное напряжение сдвига, восстановление структуры после нагрузки, показали, что образец бифункциональной мази № 11 относится к системе с тиксотропным типом структуры, для которой характерны упруго-вязкие свойства.

С помощью турбидиметрического титрования определяли хондроитина сульфат в испытуемом образце № 11. Добавление избытка цетилпиридиний хлорида к раствору хондроитина сульфата ведет к возрастанию мутности и выпадению преципитата, что позволяет определять хондроитина сульфат с помощью турбидиметрического титрования в видимой области в образце бифункциональной мази.

Стандартный раствор хондроитина сульфата натрия и испытуемый раствор образца № 11 бифункциональной мази титровали раствором цетилпиридиния хлорида 1 мг/мл с использованием детектора фототрода при длине волны 520 нм. Как свидетельствуют экспериментальные данные, количественное содержание хондроитина сульфата в бифункциональной мази составляет $46,20 \pm 0,79$ мг на 1 г мази. Относительная погрешность анализа находится в пределе $\pm 3,22\%$.

Для подтверждения специфичности методики определения хондроитина сульфата была приготовлена модельная смесь № 1 (целекоксиб – 1%, ДМСО – 5%, ПЭГ-400 – 50%, ПЭГ-4000 – 19%, вода – 25%). Принципиальное отличие модельной смеси от образца № 11 заключалось в отсутствии в рецептуре хондроитина сульфата. Кривая титрования модельной смеси приведена на рисунке 2.

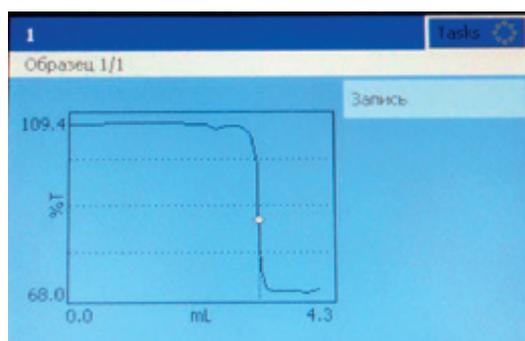


Рисунок 1. Кривая турбидиметрического титрования образца бифункциональной мази № 11

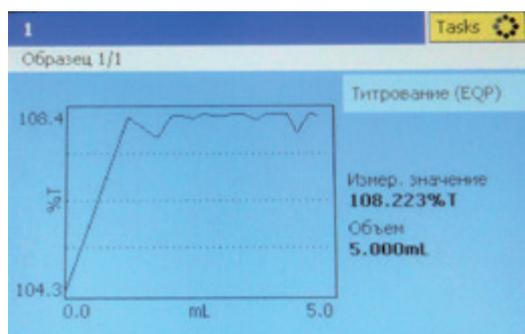


Рисунок 2. Кривая турбидиметрического титрования модельной смеси № 1

Как видно из рисунка 2, модельная смесь № 1 не титруется цетилпиридиния хлоридом. При добавлении титранта пропускание монотонно возрастает, не наблюдается ни падения пропускания, ни точки перегиба. По результатам титрования модельной системы можно утверждать, что присутствующие активные (целлекоксиб) и вспомогательные (ПЭГ, ДМСО) компоненты мази не мешают количественному определению хондроитина сульфата.

Изучение УФ-спектра раствора мази в диметилсульфоксиде показало, что имеется максимум поглощения при длине волны 261 ± 2 нм, совпадающий с максимумом поглощения раствора стандартного образца целлекоксиба в диметилсульфоксиде (рисунок 3). Это позволяет рекомендовать указанный метод для идентификации целлекоксиба в бифункциональной мази.

С помощью метода УФ-спектрофотометрии определяли содержание целлекоксиба в образце мази № 11. Для расчета количественного содержания целлекоксиба в мази измеряли оптическую плотность в максимуме поглощения 261 нм стандартного и испытуемого растворов. Как свидетельствуют экспериментальные данные, количественное содержание целлекоксиба в мази составляет $9,52 \pm 0,11$ мг на 1 г мази. Относительная погрешность анализа находится в пределе $\pm 2,01\%$.

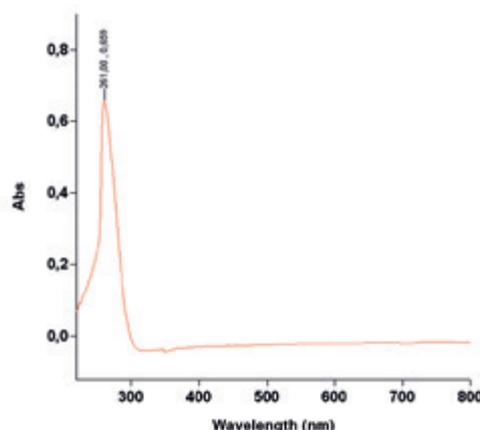


Рисунок 3. УФ-спектр раствора стандартного образца целлекоксиба в диметилсульфоксиде

Предложенные методики оценки количественного содержания активных компонентов бифункциональной мази на основе хондроитина сульфата можно рекомендовать для ее стандартизации.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана технология бифункциональной мази, содержащей в качестве активных компонентов хондроитина сульфат и целлекоксиб на гидрофильной основе, состоящей из смеси ПЭГ-400/ПЭГ-4000. В ходе исследования разработаны методики количественного определения активных компонентов в бифункциональной мази: хондроитина сульфата натрия – методом турбидиметрического титрования и целлекоксиба – УФ-спектрофотометрическим методом.

ЛИТЕРАТУРА

1. А.Л. Барсук. Современные аспекты фармакотерапии остеоартроза: хондропротекторы для местного и перорального применения // РМЖ. Независимое издание для практикующих врачей. URL: http://www.rmj.ru/articles_8686.htm (дата обращения 16.10.2017).
2. О.М. Фоломеева, Ш.Ф. Эрдес. Распространенность и социальная значимость ревматических заболеваний в Российской Федерации // Энциклопедия лекарств и товаров аптечного ассортимента. URL: http://www.rlsnet.ru/articles_461.htm (дата обращения 16.10.2017).
3. Е.А. Долгова, Д.Р. Ракица. Фармакоэпидемиология остеоартрита в Рязанской области // Современные проблемы науки и образования. 2012. № 6. URL: www.science-education.ru/106-7403 (дата обращения 16.10.2017).
4. Н.Н. Крюков и др. Справочник терапевта. – Ростов-на-Дону: Феникс, 2013. 446 с.
5. Л.И. Алексеева. Современные представления о диагностике и лечении остеоартроза // Русский медицинский журнал. 2000. № 8–9. С. 377–379.
6. Патент РФ № 2582974. Комбинированная активная композиция для лечения заболеваний опорно – двигательной системы / В.Н. Шестаков, Т.Ю. Андреевичева, Л.В. Персанова, К.Р. Савельева. – Бюл. № 12. 2016.